



TITLE:

Migration of splenic lymphocytes promotes liver fibrosis through modification of T helper cytokine balance in mice( Abstract\_要旨 )

AUTHOR(S):

Tanabe, Kazutaka

---

CITATION:

Tanabe, Kazutaka. Migration of splenic lymphocytes promotes liver fibrosis through modification of T helper cytokine balance in mice. 京都大学, 2015, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2015-07-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k19222>

RIGHT:

許諾条件により本文は2016-03-03に公開; The final publication is available at Springer via <http://dx.doi.org/10.1007/s00535-015-1054-3>.

京都大学	博士 (医 学)	氏 名	田 邊 和 孝
論文題目	Migration of splenic lymphocytes promotes liver fibrosis through modification of T helper cytokine balance in mice (マウスにおいて脾臓由来のリンパ球は肝臓のヘルパーT リンパ球のサイトカインバランスの変化を介して肝線維化の進行を促進する)		
(論文内容の要旨)			
<p><b>背景：</b>持続的な肝傷害は肝線維化を引き起こし、最終的には肝硬変に至る。慢性肝傷害の原因は様々あるが、病理組織学的には類似な変化である肝線維化を引き起こす。つまり、肝線維化の病態生理学的メカニズムを理解し、その進行を抑制することは慢性肝疾患患者の予後を改善する上で極めて重要である。これまでにいくつかの基礎実験及び臨床研究において、脾臓摘出術が肝線維化の進行に対して抑制的に作用することが示されている。しかしながら、そのメカニズムについては多くの部分が未だ解明されていない。本研究では脾臓の免疫学的な側面に着目した。免疫系は肝線維化の進行に影響を及ぼす。ヘルパーT リンパ球と肝線維化の関係がよく知られており、サブセットの 1 つである Th1 が優位だと肝線維化は抑制され、反対に Th2 が優位だと肝線維化は促進する。このような背景を踏まえて、本研究の目的は免疫学的なメカニズムに着目して、脾臓と肝線維化の関係を解明することとした。</p> <p><b>方法：</b>BALB/c、SCID マウスに脾臓摘出術または sham 手術を施行後、四塩化炭素(CCl<sub>4</sub>)やチオアセトアミド(TAA)を腹腔内に 6 週間反復的に投与して肝線維化を誘導した。</p> <p><b>結果：</b>Balb/c マウスではシリウスレッド染色やヒドロキシプロリン定量等による評価の結果、脾臓摘出術により CCl<sub>4</sub> 及び TAA 誘導の肝線維化が有意に抑制された。肝臓での Th1 及び Th2 サイトカイン発現を RT-PCR 等で評価した結果、Th1/Th2 バランスは脾摘により Th1 優位に変化した。機能的な T 細胞を欠損する SCID マウスでは、脾摘による Th1/Th2 バランスの変化を認めず、肝線維化の抑制効果も認めなかった。これらの結果から、Th1/Th2 バランスへの修飾が脾摘による肝線維化抑制効果に関与していることが示唆された。脾臓は B 細胞の成熟・分化に関与しており Th2 優位の環境を形成している。免疫染色や Flow cytometry による分析の結果、肝傷害時に脾臓の CD4(ヘルパーT 細胞のマーカー)陽性のリンパ球数は経時的に有意な減少を認めた。一方、肝傷害時に肝臓では CD4 陽性細胞数の増加を認めた。解剖学的に脾臓は門脈系を介して肝臓と直結しており、肝傷害時における脾臓から肝臓へのリンパ球の遊走が推測された。脾臓のリンパ球動態を調べるため、全身の細胞で GFP を発現するグリーンマウスより分離した GFP 陽性脾細胞を同種野生型マウスの脾臓に移植し、CCl<sub>4</sub> により肝傷害を誘導した。その結果、肝臓で GFP 及び CD4 二重陽性の細胞を認め、脾臓から肝臓への CD4 陽性リンパ球の遊走が示唆された。二重陽性細胞の数は CCl<sub>4</sub> 投与後時間依存性に増加を認め、更に Flow cytometry による分析の結果、これらの細胞の大部分は Th2 リンパ球であった。肝線維化の進行における脾細胞の</p>			

重要性を確認するため、脾摘後のマウスに径門脈的に脾細胞を注入し、その後 CCl <sub>4</sub> で肝傷害を誘導し肝線維化を評価した。注入した脾細胞の寿命を考慮し 3 週間後に評価を施行した。脾摘後にコントロールとして PBS を門注した群及び脾摘なしで肝線維化を誘導した群と比較した結果、脾細胞を注入した群の肝線維化は、肝傷害+脾摘なし群と同程度まで増悪を認めた。
<p><b>結論：</b>肝傷害時に Th2 優位な脾臓由来のリンパ球が肝臓に遊走し、肝臓の Th1/Th2 バランスを Th2 優位に変化させ、その結果肝線維化の進行を促進することが示唆された。SCID マウスにおいては脾摘による肝線維化抑制効果が相殺されたことも肝線維化における免疫系の重要性を示す結果といえる。脾臓摘出術は Th1/Th2 バランスの修飾を介して肝線維化抑制に関与すると考えられた。本研究は、肝傷害時に脾臓由来のヘルパーT リンパ球が肝線維化の進行において重要な役割を果たすことを明らかにした。この結果は、免疫調節が肝線維化に対する有効な治療法となる可能性を示唆するものとする。</p> <p>(論文審査の結果の要旨)</p> <p>肝線維化の病理学的機序を理解し、その進行を抑制することは慢性肝疾患患者の予後を改善する上で極めて重要である。脾臓摘出術(脾摘)が肝線維化の進行を抑制するという報告があるが、そのメカニズムは不明な点が多い。</p> <p>本学位申請者は脾臓の免疫学的側面に着目し脾摘と肝線維化の関係を検討した。</p> <p>マウスに脾摘または sham 手術を施行後、四塩化炭素やチオアセトアミドの反復的腹腔内投与で肝線維化を誘導した結果、脾摘により肝線維化が有意に抑制され、肝臓内の Th1/Th2 バランスは Th1 優位に変化した。SCID マウスでは肝線維化の抑制効果は認めなかった。更に肝傷害時に脾臓の CD4 陽性リンパ球数は経時的に減少し、肝臓では有意な増加を認めた。GFP 陽性脾細胞の同種野生型マウス脾臓への移植実験にて、脾臓から肝臓への CD4 陽性リンパ球の遊走と経時的増加を認め、これらの大部分は Th2 であった。脾摘後のマウスに経門脈的に脾リンパ球を注入し肝傷害を誘導した結果、肝線維化の増悪を認めた。肝傷害時に Th2 優位な脾臓由来のリンパ球が肝臓に遊走し、肝臓の Th1/Th2 バランスを Th2 優位に変化させ、その結果肝線維化の進行が促進することが示唆された。脾摘は Th1/Th2 バランスの修飾を介して肝線維化抑制に関与する可能性が示された。</p> <p>以上の研究は、脾摘による肝線維化抑制効果の機序の解明に貢献し肝線維化治療の発展に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成 2 7 年 6 月 8 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>
要 旨 公 開 可 能 日 ：
年 月 日 以 降